

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV
Sektion Klinische Infektiologie
des Klinikums der Universität München
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor Prof. Dr. med. Martin Reincke

IMMUNOLOGISCHE GRUNDLAGEN DER HIV-INFEKTION UND -TOLERANZ BEI KINDERN UND ERWACHSENEN

Kumulative Habilitationsschrift
zur Erlangung der Lehrbefähigung im Fach Innere Medizin

Vorgelegt von

DR. MED. JULIA ROIDER

München 2021



Inhaltsverzeichnis

Einführung	4
Eigene Beiträge	6
Eigene Beiträge zur immunologischen Grundlagenforschung im Rahmen der Entwicklung eines therapeutischen HIV-Impfstoffs.....	6
Eigene Beiträge zur immunologischen Grundlagenforschung im Rahmen der Entwicklung eines protektiven HIV-Impfstoffs.....	7
Eigene Beiträge zur immunologischen Grundlagenforschung im Rahmen der HIV- Heilungsforschung.....	8
Ergebnisse	8
Ergebnisse zur immunologischen Grundlagenforschung im Rahmen der Entwicklung eines therapeutischen HIV-Impfstoffs.....	9
Ergebnisse zur immunologischen Grundlagenforschung im Rahmen der Entwicklung eines protektiven HIV-Impfstoffs.....	12
Ergebnisse zur immunologischen Grundlagenforschung im Rahmen der HIV- Heilungsforschung.....	15
Abkürzungen	17
Literaturverzeichnis	18

Der kumulativen Habilitationsschrift liegen folgende Originalarbeiten zu Grunde:

Arbeiten im Rahmen der immunologischen Grundlagenforschung für die Entwicklung eines CD8 T-Zell basierten therapeutischen HIV-Vakzins:

- Roider J, Meissner T, Kraut F, Vollbrecht T, Stirner R, Bogner JR, Draenert R. **Comparison of experimental fine-mapping to in silico prediction results of HIV-1 epitopes reveals ongoing need for mapping experiments.** *Immunology.* 2014 Oct;143(2):193-201. doi: 10.1111/imm.12301.
- Roider J, Kalteis AL, Vollbrecht T, Gloning L, Stirner R, Henrich N, Bogner JR, Draenert R. **Adaptation of CD8 T cell responses to changing HIV-1 sequences in a cohort of HIV-1 infected individuals not selected for a certain HLA allele.** *PLoS One.* 2013 Dec 3;8(12):e80045. doi: 10.1371/journal.pone.0080045.

Arbeiten im Rahmen der immunologischen Grundlagenforschung für die Entwicklung eines protektiven HIV-Vakzins:

- Roider J, Porterfield J Z, Ogongo P, Muenchhoff M, Adland E, Groll A, Morris L, Moore PL, Ndung'u T, Kløverpris H, Goulder P, Leslie A. **Plasma IL-5 but Not CXCL13 Correlates With Neutralization Breadth in HIV-Infected Children.** *Front Immunol.* 2019 Jul 02; doi: 10.3389/fimmu.2019.01497.
- Roider J, Maehara T, Ngoepe A, Ramsuran D, Muenchhoff M, Adland E, Aicher T, Kazer SW, Jooste P, Karim F, Kuhn W, Shalek AK, Ndung'u T, Morris L, Moore PL, Pillai S, Kløverpris H, Goulder P, Leslie A. **High-Frequency, Functional HIV-Specific T-Follicular Helper and Regulatory Cells Are Present Within Germinal Centers in Children but Not Adults.** *Front Immunol.* 2018 Sep 12;9:1975. doi: 10.3389/fimmu.2018.01975.
- Muenchhoff M, Chung A, Roider J, Dugast AS, Richardson S, Kløverpris H, Leslie A, Ndung'u T, Moore P, Alter G, Goulder P. **Distinct immunoglobulin Fc-glycosylation patterns are associated with disease non-progression and broadly neutralising antibody responses in pediatric HIV-infection.** *mSphere* 2020 Nov-Dec; 5(6): e00880-20.

Arbeiten im Rahmen der immunologischen Grundlagenforschung im Gebiet der HIV-Heilungsforschung

- Roider J, Ngoepe A, Muenchhoff M, Adland E, Groll A, Ndung'u T, Kløverpris H, Goulder P, Leslie A. **Increased Regulatory T-Cell Activity and Enhanced T-Cell Homeostatic Signaling in Slow Progressing HIV-infected Children.** *Front Immunol.* 2019 Feb 12;10:213. doi: 10.3389/fimmu.2019.00213.
- Singh A, Kazer SW, Roider J, Krista KC, Millar J, Asowata OE, Ngoepe A, Ramsuran D, Fardoos R, Ardain A, Muenchhoff M, Kuhn W, Karim F, Ndung'u T, Shalek AK, Goulder P, Leslie A, Kløverpris HN. **Innate Lymphoid Cell Activation and Sustained Depletion in Blood and Tissue of Children Infected with HIV from Birth Despite Antiretroviral Therapy.** *Cell Rep.* 2020 Sep 15;32(11):108153. doi: 10.1016/j.celrep.2020.108153

Einführung

Zur klinischen Relevanz. HIV bleibt auch nach 30 Jahren intensiver Forschung sowie Präventions-, und Interventionsstrategien mit 38 Millionen infizierten Menschen weltweit ein globales Gesundheitsproblem. Die in dieser Habilitationsschrift zusammengefassten Publikationen sind translationale Arbeiten im Bereich der Immunologie, Immuntoleranz sowie Heilungsforschung der HIV-Infektion. Im direkten Vergleich der Auswirkung einer HIV-Infektion auf das Immunsystem des Kindes und des Erwachsenen lassen sich wichtige Schlüsse für das HIV-Forschungsfeld und darüber hinausziehen. Durch die besondere immunologische Situation in Kindern können zum einen Lehren über Immunkontrolle und Adaption an das Virus gezogen werden. Zum anderen scheint das Immunsystem des Heranwachsenden besonders darauf ausgerichtet zu sein, starke und spezifische Antikörper gegen HIV zu produzieren. Dies ist von Bedeutung, da eine protektive Impfung, welche künftige Generationen vor einer Ansteckung mit HIV schützen soll, idealerweise in der Kindheit vor Beginn der sexuellen Aktivität gegeben werden sollte und dort, unseren Beobachtungen zu Folge, auch den vielversprechendsten Erfolg haben könnte.

Durch die Einführung der kombinierten antiretroviralen Therapie und der seit 2015 bestehenden Empfehlung, nach Diagnosestellung alle HIV-infizierten Individuen unabhängig vom klinischen Stadium sowie Helferzellzahlen sofort zu therapieren, konnte die HIV-assoziierte Mortalität auf weniger als 1 Million in 2017 verringert werden (UNAIDS 2018).

Obwohl die HIV-Inzidenz 2017 mit 1,8 Millionen Neuinfektionen global weiter leicht abnehmend ist, wird es zum Erreichen des UNAIDS Ziels, die HIV-Epidemie bis 2030 zu beenden, aller Wahrscheinlichkeit nach eines Impfstoffes bedürfen. Prinzipiell unterscheidet man in der HIV-Impfstoffforschung zwei unterschiedliche Konzepte, das therapeutische Vakzin von dem protektiven Vakzin.

Therapeutisches HIV-Vakzin. Bei diesem Konzept wird versucht, den Verlauf einer bereits etablierten HIV-Infektion durch eine therapeutische Impfung zu mildern (Wilson, Reed et al. 2006, Liu, O'Brien et al. 2009). Hierbei versucht man unter anderem, sich Antigen-spezifischer CD8 T-Zellen zunutze zu machen, welche eine wichtige Rolle in der Kontrolle der natürlichen HIV-Infektion spielen (Borrow, Lewicki et al. 1994, Koup, Safrit et al. 1994). CD8 T-Zellen erkennen das ihnen präsentierte (Fremd)-Antigen im Komplex aus Epitop und MHC-Klasse I Rezeptor mit Hilfe ihres T-Zellrezeptors (Klein and Sato 2000, Klein and Sato 2000). Hierbei spielt die Mutationsfreudigkeit des HI-Virus eine entscheidende Rolle: dem Druck durch das Immunsystem (Borrow, Lewicki et al. 1997, Price, Goulder et al. 1997), durch die antiretrovirale Therapie (Derache, Traore et al. 2007, Marcelin, Jarrousse et al. 2007, Marconi, Sunpath et al. 2008, Maserati, De Silvestri et al. 2010) oder beispielsweise durch eine Impfung entzieht sich das Virus durch sogenannte „Flucht“- Mutationen (Davenport, Loh et al. 2008). Ein möglicher Ansatz hierbei wäre, eine CD8 T-Zell Vakzine gegen weit verbreitete Medikamentenresistenzmutationen zu induzieren (Vollbrecht, Eberle et al. 2012). Diese über die Wirksamkeit der HIV-Therapie entscheidenden Mutationen würden dann keine klinische Relevanz bekommen, weil durch die Impfung induzierte spezifische CD8 T-Zellen das Auftreten der Medikamenten-resistenten Viren verhindern könnten. Ob allerdings das Immunsystem HIV-infizierter Menschen eine „neue“ Immunantwort gegen ein mutiertes Antigen generieren kann, war in der Literatur wenig untersucht gewesen. Das experimentelle

Definieren des optimalen Epitops (ein Protein aus 8-10 Aminosäuren), welches zusammen mit dem passenden MHC Klasse I Molekül von den CD8 T-Zellen erkannt wird, ist ein Zeit-, und Kostenintensiver Prozess, welcher teils durch computerbasierte Vorhersagescores ersetzt wird (Martin, Sbai et al. 2003).

Protektives HIV-Vakzin. Für ein protektives Vakzin, welches eine HIV-Infektion verhindern kann, wird man nach heutigem Stand des Wissens breit neutralisierende Antikörper induzieren müssen (Mascola and Haynes 2013, Streeck, D'Souza et al. 2013, West, Scharf et al. 2014). Dies sind Antikörper, welche die Mehrzahl der weltweit zirkulierenden HIV-1 Stämme neutralisieren können und im Verlauf der natürlichen HIV-Infektion in einer Minderheit der chronisch infizierten Erwachsenen entstehen (Binley, Lybarger et al. 2008, van Gils, Euler et al. 2009, Landais, Huang et al. 2016). In Studien zum passiven Transfer solcher Antikörper im Affenmodel konnte bereits gezeigt werden, dass diese Antikörper eine Infektion verhindern können (Mascola, Stiegler et al. 2000, Parren, Marx et al. 2001, Moldt, Rakasz et al. 2012, Pegu, Yang et al. 2014). Die immunregulatorischen Mechanismen, welche der Entstehung von breit neutralisierenden Antikörpern in der natürlichen HIV-Infektion zugrunde liegen, sind bislang allerdings noch wenig verstanden (Rerks-Ngarm, Pitisuttithum et al. 2009, Montefiori, Karnasuta et al. 2012, Hammer, Sobieszczyk et al. 2013).

Die Mehrheit der vertikal HIV-infizierten Kinder bildet potente und breit neutralisierende Antikörper gegen HIV, viele bereits während der ersten zwei Lebensjahre (Goo, Chohan et al. 2014, Muenchhoff, Adland et al. 2016). Zudem reagierten Kinder auf ein gp120-basiertes Vakzin mit einer stärkeren Antikörper-Antwort als Erwachsene (Fouda, Cunningham et al. 2015, McGuire, Fong et al. 2018). Diese immunologischen Besonderheiten in HIV-infizierten Kindern sowie die Notwendigkeit, diese vulnerable Gruppe vor einer HIV-Infektion zu schützen, machen sie zu einer besonders interessanten Studienpopulation im Feld der Impfstoffentwicklung (Goulder, Lewin et al. 2016).

Neben den neutralisierenden Antikörpern scheinen auch sogenannte nicht-neutralisierende Antikörper durch Fc-Rezeptor-vermittelte Funktionen wie Phagozytose (ADCP) und Zytolyse (ADCC) einen protektiven Effekt auf den Krankheitsverlauf zu haben (Baum, Cassutt et al. 1996, Chung, Ghebremichael et al. 2014, Ackerman, Mikhailova et al. 2016) und wurden mit einem Schutz vor HIV Ansteckung im RV144 Trial in Verbindung gebracht (Rolland, Edlefsen et al. 2012).

Bis zur Entwicklung eines wirksamen Impfstoffes werden noch viele Menschen lebenslang mit dem HI-Virus leben müssen. Anekdotische Einzelfälle wie der des sogenannten „Berlin-Patienten“ zeigen, dass eine funktionelle Heilung von HIV prinzipiell möglich ist (Allers, Hutter et al. 2011). In dem großen Feld der Heilungsforschung spielt die Observation immunologischer Zusammenhänge in der natürlichen HIV-Infektion nach wie vor eine große Rolle.

HIV-Heilungsforschung. Trotz der Fortschritte in den Maßnahmen zur Prävention der Mutter-Kind Übertragung haben sich 2017 180.000 Kinder neu infiziert (UNAIDS 2018). Der Krankheitsverlauf zwischen vertikal infizierten Kindern und horizontal infizierten Erwachsenen ist fundamental verschieden, mit einer Sterblichkeit von 50% innerhalb der ersten 2 Lebensjahren bei Kindern, die nicht antiretroviral behandelt werden (Newell, Coovadia et al. 2004). Es gibt jedoch eine Untergruppe von vertikal infizierten Kindern, welche ohne Therapie

und trotz hoher Viruslasten ein stabiles Helferzellniveau erhalten, und deren Krankheitsverlauf dem der natürlichen Wirte der HIV Infektion ähnelt, welche nicht an AIDS erkranken (Blanche, Newell et al. 1997, Silvestri, Sodora et al. 2003, Paul, Mao et al. 2005, Ssewanyana, Elrefaei et al. 2007, Ananworanich, Apornpong et al. 2010, Brenchley and Paiardini 2011, Hainaut, Verscheure et al. 2011, Chahroudi, Bosinger et al. 2012, Muenchhoff, Adland et al. 2016). Ein grundlegender Mechanismus für diesen Phänotyp scheint eine niedrige Immunaktivierung, vor allem der Helferzellen zu sein (Muenchhoff, Adland et al. 2016). Die zugrundeliegenden immunologischen Mechanismen, welche zum Erhalt dieses Phänotyps beitragen, waren noch wenig untersucht.

Eigene Beiträge

Die hier vorgelegte kumulative Habilitationsarbeit besteht aus drei inhaltlich miteinander verknüpften Themenbereichen. Alle drei sind im Bereich der Erforschung der HIV-gerichteten Immunität, Immuntoleranz und Heilungsforschung der HIV-Infektion angesiedelt. Mit den Bioproben von HIV-infizierten Kindern und Erwachsenen, sowie HIV-negativen Kontrollen, wurden im Rahmen translationaler Grundlagenforschung folgende Themen bearbeitet:

Eigene Beiträge zur immunologischen Grundlagenforschung im Rahmen der Entwicklung eines therapeutischen HIV-Impfstoffs

Eine therapeutische Impfung gegen gängige Medikamentenresistenzen von generisch verfügbaren Bestandteilen der antiretroviralen Therapie wäre eine elegante Lösung, Therapieversagen in Ressourcen-limitierten Ländern zu vermeiden. In Arbeiten unserer Gruppe konnte gezeigt werden, dass CD8 T-Zellen, welche die, eine Lamivudin/ Emtricitabine -Resistenz erzeugenden M184V Mutation erkennen, das Wachstum von M184V-resistenten Viren *in-vitro* hemmen können (Vollbrecht, Eberle et al. 2012). Ob das Immunsystem chronisch HIV-Infizierter jedoch überhaupt eine mutierte Variante eines bereits existierenden Epitops erkennen kann, war eine der in dieser Habilitationsarbeit bearbeiteten Fragestellungen. Hierfür wurden CD8 T-Zellantworten gegen die HIV-Proteine Gag, Nef und Pol longitudinal mittels Elispot Assays untersucht und, bei im Verlauf abnehmender Stärke der Immunantwort, Sequenzierungen des autologen Virus der korrespondierenden Zeitpunkte durchgeführt. Im weiteren Verlauf wurde die Stärke des Erkennens der „Wildtyp“- sowie der mutierten Sequenz durch die CD8 T-Zellen mittels Peptidtitrationsassays gegeneinander getestet. Zudem wurden die entsprechenden Peptid-spezifischen CD8 T-Zell-Effektorfunktionen mittels durchflusszytometrischer „intracellular cytokine staining“ Assays miteinander verglichen. Hier konnte gezeigt werden, dass das Immunsystem in der Lage ist, neue Immunantworten gegen mutierte Antigene zu bilden, allerdings nur in einer Minderzahl der Fälle (Roider, Kalteis et al. 2013).

Die Identifikation physiologisch relevanter CD8 T-Zell Epitope ist die Grundlage nicht nur für die Entwicklung von CD8 T-Zell basierten Impfstoffen, sondern auch für das grundlegende Verständnis von Wirt-Pathogen Interaktionen. Wir führten mittels Peptidtitrationsassays und HLA-Restriktionsassays experimentelle Bestimmungen von 9 optimalen CD8 T-Zellepitopen durch und verglichen die Ergebnisse dieses Goldstandards zur optimalen Epitopbestimmung mit den Ergebnissen von Computer-gestützten Vorhersageprogrammen. Wir konnten zeigen, dass Computer-basierte Epitop Vorhersageprogramme das experimentelle Definieren von

optimalen Epitopen nicht ersetzen können, aber gut zur Einengung der Anzahl zu testender Epitope benutzt werden können (Roider, Meissner et al. 2014).

Eigene Beiträge zur immunologischen Grundlagenforschung im Rahmen der Entwicklung eines protektiven HIV-Impfstoffs

In der Literatur finden sich zahlreiche Hinweise, dass Kinder eine bessere HIV-spezifische Antikörperantwort bilden können als Erwachsene. So sind bei vertikal HIV-infizierten Kindern potente, breit neutralisierende Antikörper schon innerhalb der ersten zwei Lebensjahre im Plasma nachweisbar (Goo, Chohan et al. 2014, Muenchhoff, Adland et al. 2016). Zudem reagierten Kinder auf ein anti-gp120-basiertes Vakzin mit einer stärkeren Antikörper-Antwort als Erwachsene (Fouda, Cunningham et al. 2015, McGuire, Fong et al. 2018). In weiteren, in diese Habilitationsschrift eingehenden Arbeiten, wurden mittels Durchflusszytometrie sowie Plasmaassays (ELISA und Multiplex Assays) Phänotyp und Funktionalität von Immunzellen HIV-infizierter Kinder und Erwachsener miteinander verglichen (Roider, Maehara et al. 2018, Roider, Porterfield et al. 2019). Zudem wurden Bestimmungen der Neutralisationsbreite HIV-spezifischen Antikörper in den beiden Gruppen durchgeführt und diese mit den Immunantworten korreliert. Es konnte gezeigt werden, dass Kinder eine höhere Frequenz von T-follikulären Helferzellen (TFH) im peripheren Blut und im sekundären Lymphgewebe aufweisen als Erwachsene und dass zudem im pädiatrischen Lymphgewebe eine starke Regulation der Keimzentrumsreaktion sowie eine starke HIV-spezifische TFH Antwort zu finden sind. Zudem korreliert bei HIV-infizierten Kindern die Neutralisationsbreite mit Plasma IL-5. Dies könnte für das zukünftige Monitorieren der Keimzentrumsreaktion, beispielsweise im Rahmen von pädiatrischen Impfstudien, ein nützliches Tool sein.

Neben den neutralisierenden Antikörpern scheinen in der protektiven Immunantwort auch sogenannte nicht-neutralisierende Antikörper durch die Vermittlung von Fc-vermittelten Funktionen wie Phagozytose (ADCP) und Zytolyse (ADCC) eine Rolle zu spielen. In einer der Arbeiten, welche in dieses Habitationsprojekt eingehen, wurde der Einfluss von nicht-neutralisierenden Antikörpern und zellulären Bestandteilen der Immunreaktion auf den natürlichen Krankheitsverlauf in HIV-infizierten Kindern untersucht (Muenchhoff 2021). Hierfür wurden neben durchflusszytometrischen Untersuchungen vor allem Bestimmungen der neutralisierenden und nicht-neutralisierenden HIV-Antikörpertiter, Assays zur Bestimmung der Fc-Rezeptor-vermittelten nicht-neutralisierenden Antikörperfunktionen (ADCC und ADCP) sowie Bestimmungen der Antikörperglykosilierungsprofile durchgeführt. Hierbei wurde unter anderem festgestellt, dass Kinder mit einem stabilem Helferzellniveau trotz hoher Viruslasten (sogenannte „non-progressors“) hohe p24-spezifische IgG Plasmalevel sowie starke gp120- und p24-spezifische Fc-vermittelte NK-Zellen Effektorfunktionen aufweisen. Mehr Fc-Sialylation auf den Antikörpern korrelierte mit der Neutralisationsbreite in den Kindern, was auf einen funktionellen Zusammenhang zwischen neutralisierenden und nicht-neutralisierenden Antikörpern hinweist.

Die Beobachtungen der immunologischen Zusammenhänge in der natürlichen HIV-Infektion bei Kindern, welche eine starke HIV-spezifische Antikörper Antwort bilden können, ist von großem Interesse für die Entwicklung von zukünftigen Impfstrategien.

Eigene Beiträge zur immunologischen Grundlagenforschung im Rahmen der HIV-Heilungsforschung

Der Krankheitsverlauf in vertikal infizierten Kindern und horizontal infizierten Erwachsenen ist fundamental verschieden, mit einer Sterblichkeit von 50% innerhalb der ersten 2 Lebensjahren bei Kindern, die nicht behandelt werden (Newell, Coovadia et al. 2004). In Vorarbeiten konnte gezeigt werden, dass der Krankheitsverlauf in einer Untergruppe von HIV-infizierten Kindern (sog. „slow progressors“) mit stabil hohen Helferzellzahlen trotz hoher Viruslasten dem der natürlichen Wirte der SIV Infektion ähnelt (Muenchhoff, Adland et al. 2016). Bei dem Erhalt dieses Phänotyps scheint insbesondere die niedrige Immunaktivierung der Helferzellen eine Rolle zu spielen. In einer der Arbeiten, welche in dieses Habilitationsprojekt eingehen, wurden Untersuchungen der regulatorischen Zellen des Immunsystems mittels Durchflusszytometrie durchgeführt und mit der Immunaktivierung in den unterschiedlichen klinischen Gruppen HIV-infizierter Kinder in Assoziation gebracht (Roider, Ngoepe et al. 2019). Hierbei konnte gezeigt werden, dass der Erhalt des „slow-progressor“- Phänotyps ein aktiver Prozess ist, welcher durch starke T-Zell Regulation sowie T-Zell Homöostase aufrecht erhalten zu werden scheint.

Lymphoide Zellen des angeborenen Systems spielen im Gewebe als zentrale gewebeständige Vermittler von Homöostase, Reparatur und Infektabwehr eine wichtige Rolle (Vivier, Artis et al. 2018). In einer weiteren Publikation dieses Habilitationsprojekts wurden Phänotyp und Funktion der lymphoiden Zellen des angeborenen Systems (ILCs) in HIV-infizierten Kindern und HIV-negativen Kontrollen im peripheren Blut und im sekundären Lymphgewebe untersucht (Singh, Kazer et al. 2020). Hierfür wurden neben durchflusszytometrischen Untersuchungen auch Transkriptionsanalysen von sortierten Immunzellpopulationen des peripheren Blutes und des sekundären Lymphgewebes durchgeführt. Während das Transkriptionsprofil der ILCs im peripheren Blut eine Hochregulation von Aktivierungsmarkern und Zellmetabolismus zeigte, war im Gewebe eine deutliche und koordinierte Immunantwort auf HIV zu beobachten. Zudem haben wir festgestellt, dass die Anwesenheit des HI-Virus im heranwachsenden Immunsystem zu einer signifikanten Verminderung der ILCs führt, welche im Gegensatz zu der Depletion der Helferzellen auch durch Initiieren einer antiretroviralen Therapie nicht wieder rückgängig gemacht werden kann. Einzige Ausnahme ist, und das unterstützt auch die aktuellen Bemühungen, HIV-infizierte Babys so rasch wie möglich zu identifizieren und sofort nach Diagnosestellung zu behandeln, die Untergruppe, welche innerhalb der ersten 48 Lebensstunden behandelt wurde. Aus den Beobachtungen der immunologischen Unterschiede zwischen HIV-infizierten Kindern und Erwachsenen lassen sich wichtige Rückschlüsse auf dem Gebiet der Heilungsforschung ziehen.

Ergebnisse

Die im folgenden aufgeführten Ergebnisse sind eine repräsentative Auswahl der Erkenntnisse der Originalpublikationen. Für eine detaillierte Darstellung der Ergebnisse, angewandter Methodik und Diskussion wird auf die entsprechenden Originalarbeiten verwiesen.

Ergebnisse zur immunologischen Grundlagenforschung im Rahmen der Entwicklung eines therapeutischen HIV-Impfstoffs

Abbildung 1 ist eine graphische Zusammenfassung der Ergebnisse des Projektes, welches 2013 publiziert wurde (Roider, Kalteis et al. 2013). Hier sieht man, dass es bei 19 Studienteilnehmern longitudinal in 30 CD8 T-Zellantworten zu einer Abnahme der Immunantwort gekommen war, in 25 dieser 30 Antworten waren Mutationen der Aminosäuresequenzen nachzuweisen, welche in 12 dieser 25 Antworten auch zur viralen „Flucht“ vor dem Erkennen durch das Immunsystem geführt hatten. Wir konnten zeigen, dass es dem Immunsystem möglich ist, eine „de-novo“ Antwort gegen ein mutiertes Antigen zu bilden. Diese Immunantwort war allerdings in unserer Kohorte von chronischen HIV-infizierten Erwachsenen nur bei einem kleinen Prozentsatz zu beobachten (1 de-novo Antwort, 4 sog. „Anpassungen der Immunstärke“).

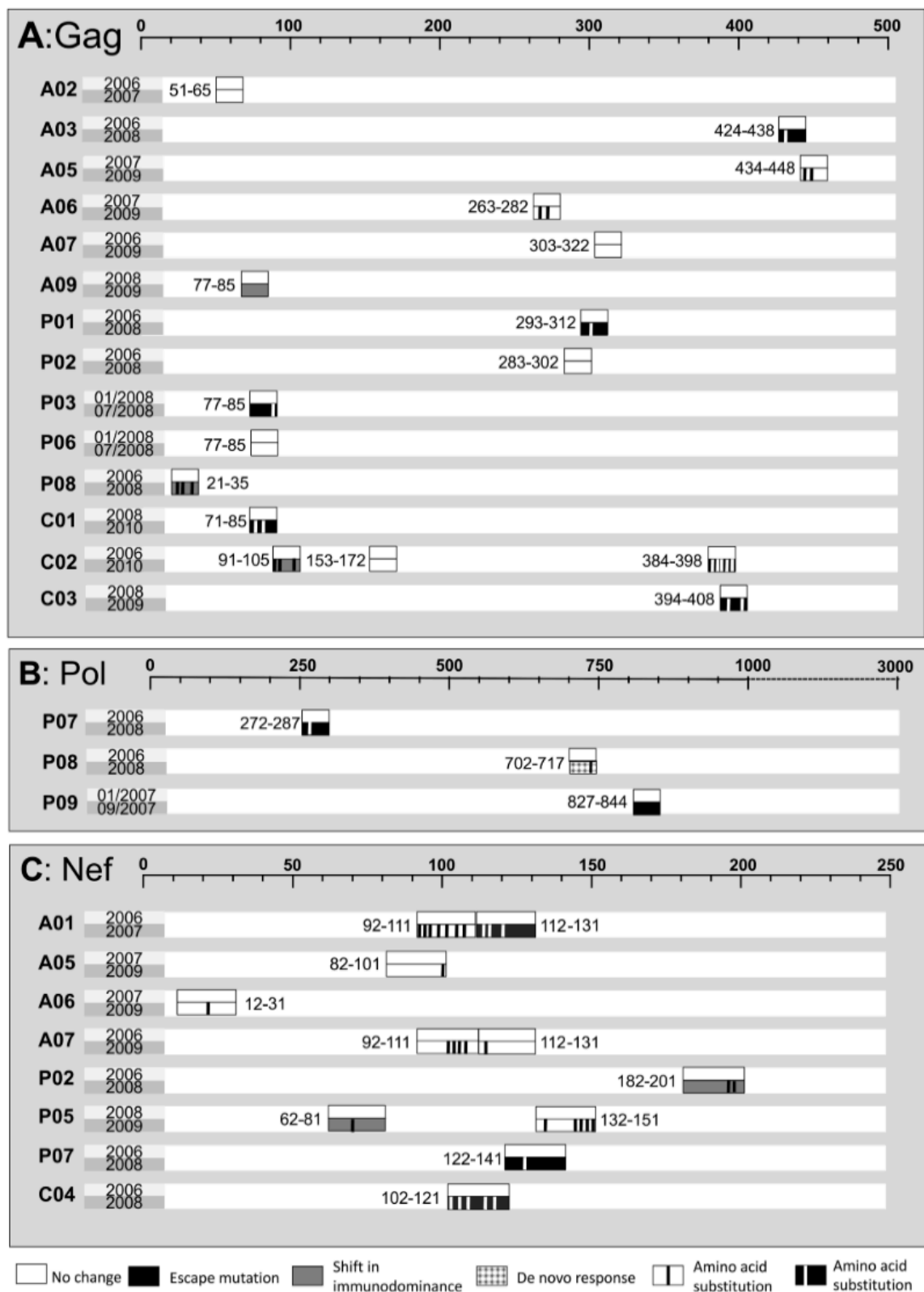


Abbildung 1: Zusammenfassung der Ergebnisse der Sequenzierungen und CD8 T-Zellantworten gegen Regionen der HIV-Proteine Gag (A), Pol (B) und Nef (C) in 19 Studienteilnehmern. In der oberen Skala ist die Aminosäureposition in den entsprechenden HIV-Proteinen, auf der linken Seite sind die IDs der Studienteilnehmer sowie die Jahreszahl der Blutabnahme angegeben. Die Boxen geben die Länge der durchgeführten Sequenzierungen an, mit Strichen sind Aminosäuremutationen angegeben und die entsprechenden Immunantworten mit Farbe (schwarz: Fluchtmutation; grau: Anpassung der Immunantwort; grau-kariert: de-novo Antwort) gekennzeichnet (Roider, Kalteis et al. 2013).

In dem 2014 publizierten, weiteren Projekt (Roider, Meissner et al. 2014) wurde im direkten Vergleich zwischen den Ergebnissen der *in-silico* Vorhersagen mittels der Programme SYFPEITHI, CTLPred und IEDP mit den Ergebnissen der experimentellen Bestimmung des optimalen Epitops zwar in einer Mehrheit der Fälle (7/9 mittels SYFPEITHI; 3/9 mittels CTLPred; 9/9 mittels IEDP) das korrekte Epitop vorhergesagt, die Akkuratessse war aber abhängig vom Wissen um den restringierenden HLA-Typ sowie der Länge des Epitops. So wurden „klassische“, aus 9 Aminosäuren bestehende Epitope korrekt, während eher ungewöhnliche, aus 11 Aminosäuren bestehenden Epitope nicht korrekt vorhergesagt wurden. In Abbildung 2 ist zu sehen, dass bei zwei Probanden (T31 und T32) das optimale HLA-A*02:01-restringierte Epitop für die identische Peptidregion RKQNPDIVYQYMDDLIV (HIV pol 327–344) einmal das Nonamer (T32: YV9) und einmal das Undecamer (T31: VV11) ist. Nur das Nonamer wurde *in-silico* korrekt vorhergesagt.

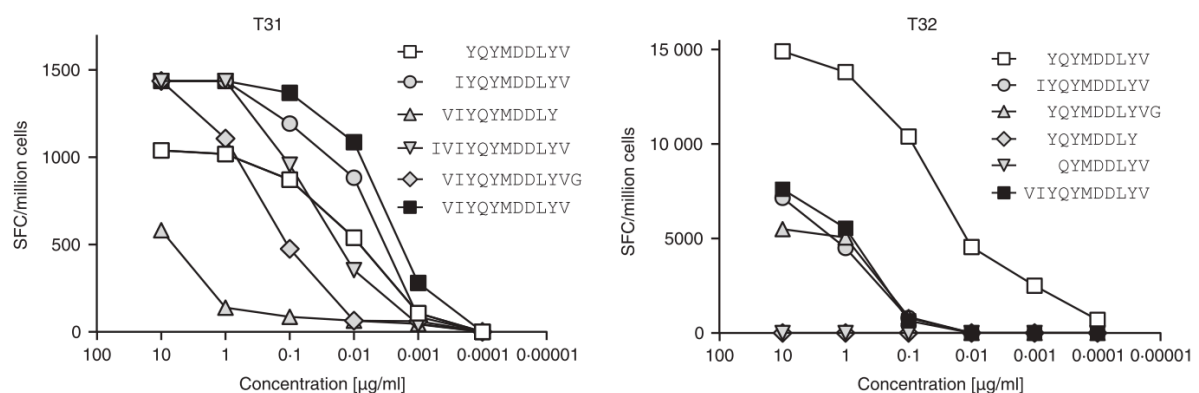


Abbildung 2: Ergebnisse der trunkierten Peptid-Titrationsassays mittels Elispot Während in Proband T31 das 11-mer VV11 der Region RKQNPDIVYQYMDDLIV (HIV pol 327–344) am besten erkannt wird, ist es bei Proband T32 das 9-mer YV9. Beide optimalen Epitope sind HLA-A*02:01-restringiert (Roider, Meissner et al. 2014).

Ergebnisse zur immunologischen Grundlagenforschung im Rahmen der Entwicklung eines protektiven HIV-Impfstoffs

In Abbildung 3 (Roider, Maehara et al. 2018) sieht man, dass im Blut von HIV-infizierten Kindern im Vergleich zu HIV-infizierten Erwachsenen eine größere Anzahl sogenannter T-follikulärer Effektorzellen nachzuweisen ist. Die Frequenz dieser Zellen im peripheren Blut korreliert mit der messbaren HIV-Neutralisationsbreite. Zudem kann man in Abbildung 4 (Roider, Maehara et al. 2018) sehen, dass T-follikuläre Zellen des sekundären lymphatischen Gewebes von HIV-infizierten Kindern auf Stimulation mit HIV-Peptiden mit der Ausschüttung von IL-21 reagieren, einem Zytokin welches mit spezifischen Helferfunktionen in der Antikörperreifung in Verbindung gebracht wird, während jene von HIV-infizierten Erwachsenen vor allem mit der, am ehesten unspezifischen, Ausschüttung von INF- γ reagieren. In Abbildung 5 (Roider, Porterfield et al. 2019) sieht man, dass die Plasmakonzentration von IL-5 mit der HIV-Neutralisationsbreite in HIV-infizierten Kindern korreliert.

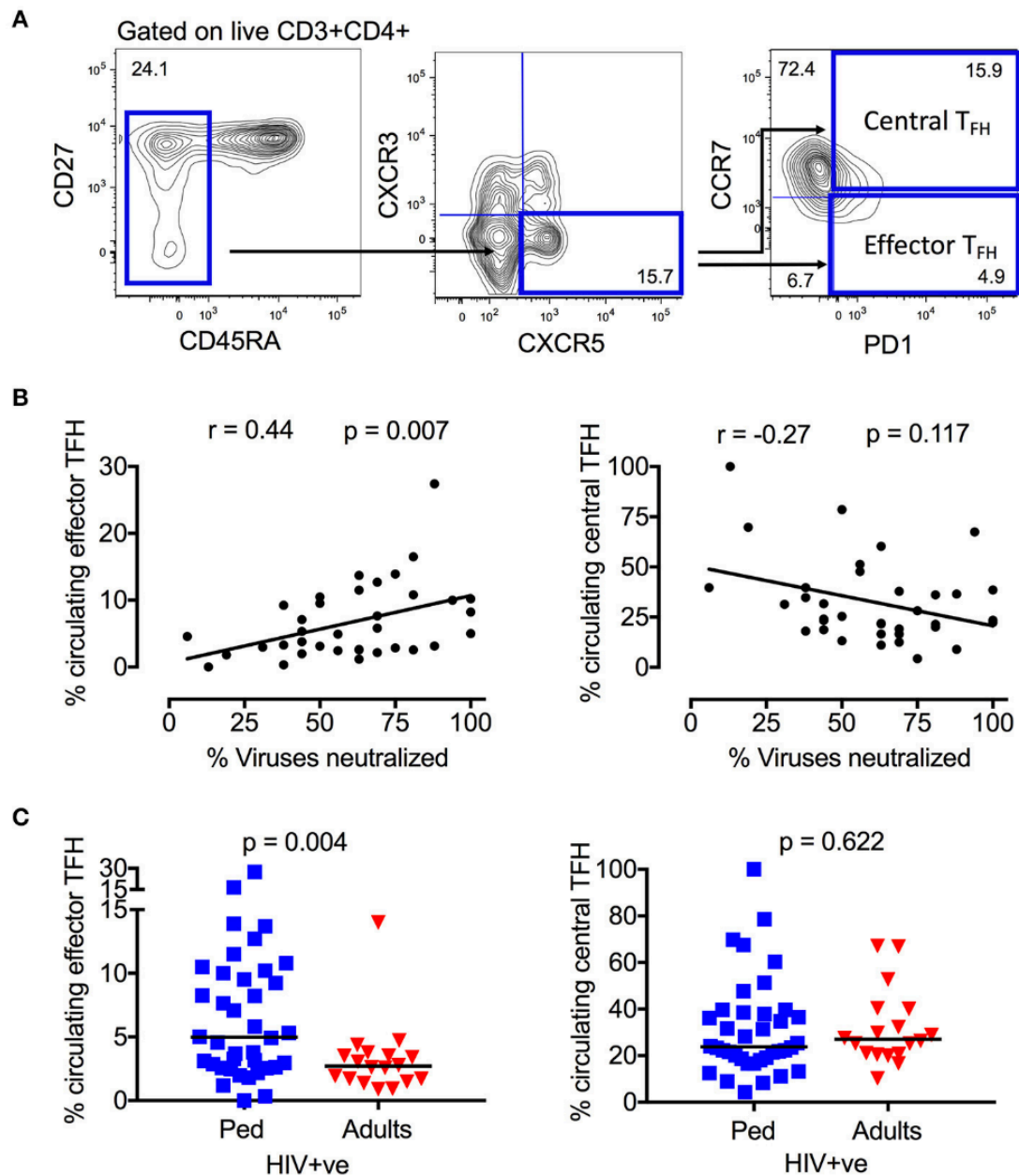


Abbildung 3: T-follikuläre Helferzellen im peripheren Blut von HIV-infizierten Kindern und Erwachsenen. (A) Durchflusszytometrische Gatingstrategie für T-follikuläre Helferzellen im peripheren Blut. (B) „Effektor“-T-follikuläre Helferzellen korrelieren mit der HIV-Neutralisationsbreite in HIV-infizierten Kindern (Spearman Rank Korrelation). (C) „Effektor“-T-follikuläre Helferzellen sind bei HIV-infizierten Kindern im Vergleich mit HIV-infizierten Erwachsenen signifikant erhöht (Roider, Maehara et al. 2018).

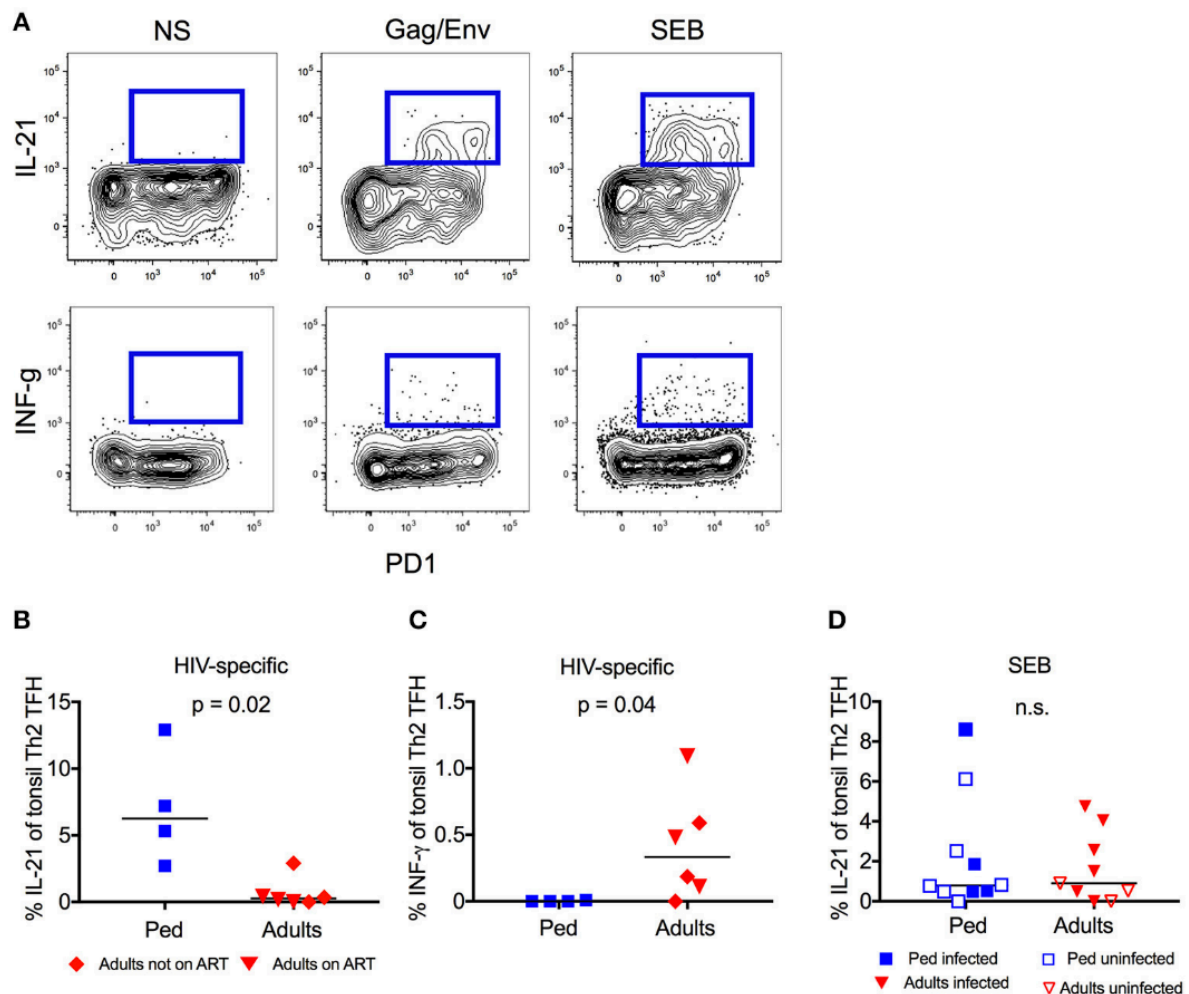


Abbildung 4: T-follikuläre Helferzellen im sekundären Lymphgewebe von HIV-infizierten Kindern und Erwachsenen. (A) Exemplarische durchflusszytometrische Plots der Zytokinausschüttung T-follikulärer Helferzellen eines HIV-infizierten Kindes. (B-C) T-follikulärer Helferzellen HIV-infizierter Kinder produzieren IL-21 nach Stimulation mit HIV-Peptiden während die von HIV-infizierten Erwachsenen INF-γ produzieren. (D) Nach unspezifischer Stimulation mit SEB ist kein Unterschied zwischen den Gruppen zu beobachten (Roeder, Maehara et al. 2018).

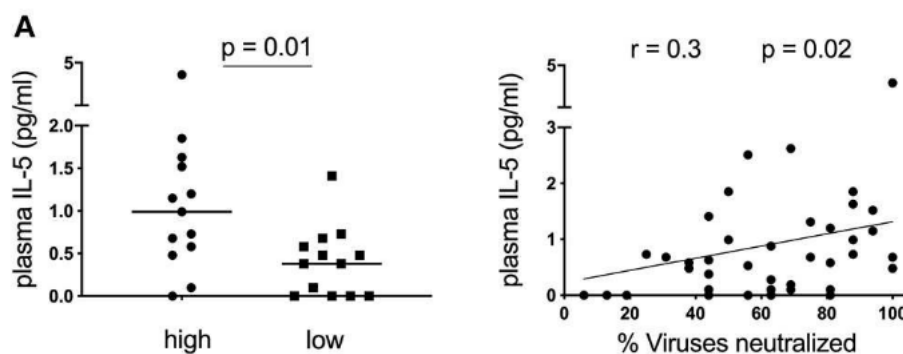


Abbildung 5: Plasma IL-5 korreliert mit der HIV-Neutralisationsbreite in HIV-infizierten Kindern. (A) Die ex-vivo Plasma IL-5 Spiegel in der Gruppe mit hoher Neutralisationsbreite („high“, Neutralisation von $\geq 81\%$ der getesteten Viren und $\geq 75\%$ Perzentile) ist signifikant erhöht im Vergleich zur Kontrollgruppe mit niedriger Neutralisationsbreite („low“, Neutralisation von $\leq 44\%$ der getesteten Viren und $\leq 25\%$ Perzentile). (B) Spearman Rank Korrelation zwischen Plasma IL-5 und Neutralisationsbreite (Roeder, Porterfield et al. 2019).

In Abbildung 6 (Muenchhoff 2021) ist zu sehen, dass Kinder mit einem stabilem Helferzellniveau trotz hoher Viruslasten (sogenannte „non-progressors, PNP“) hohe p24-spezifische IgG Plasmalevel im Vergleich zu Kontrollgruppen aufweisen. Diese waren therapienaive HIV-infizierte Kinder, bei welchen ein Fortschreiten der HIV-Erkrankung zu verzeichnen war („Progressors, Prog“) sowie HIV-infizierte Kinder, welche bereits eine antiretrovirale Therapie erhalten („ART“).

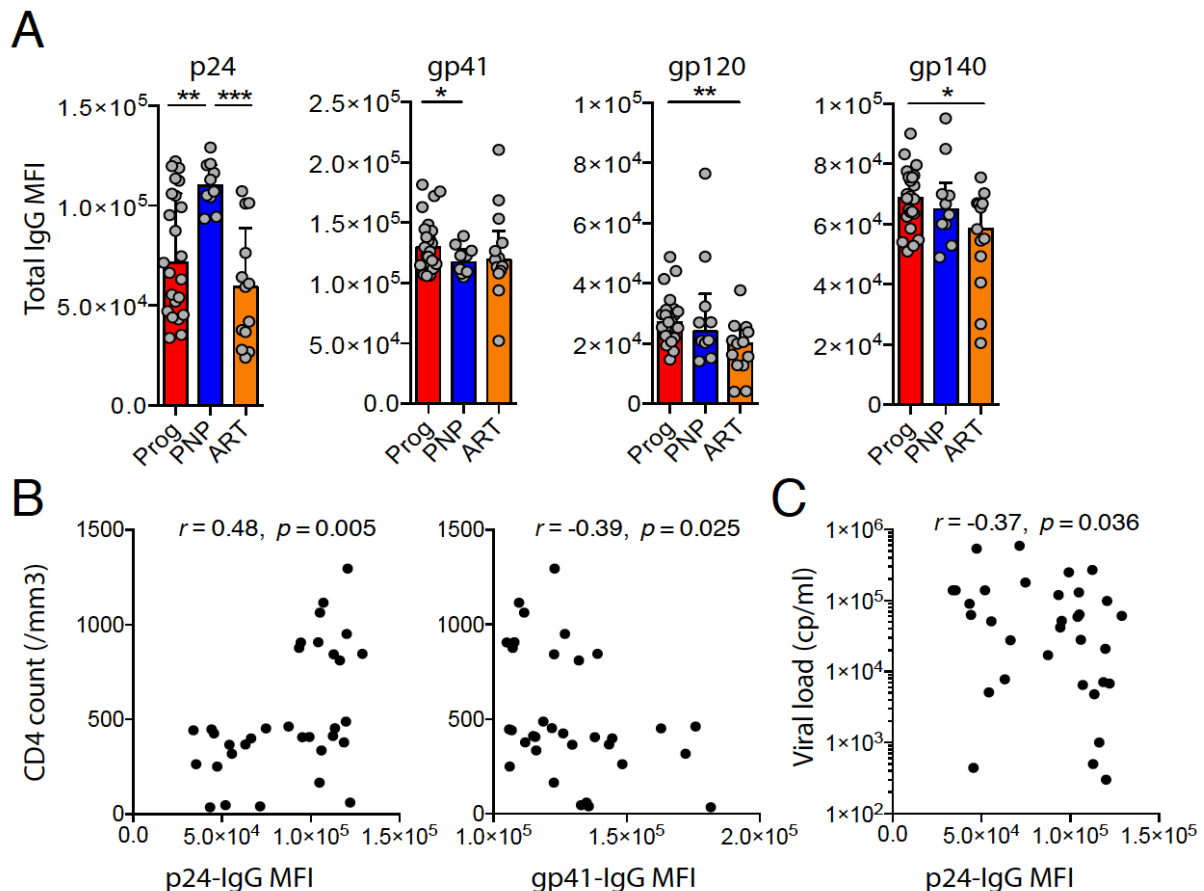


Abbildung 6: Plasmatiter von nicht-neutralisierenden HIV-spezifischen Antikörpern unterscheiden non-progressors von progressors. (A) Plasmatiter von Antikörpern gegen HIV-p24, HIV-gp41, HIV-gp120 und HIV-gp140 zeigen signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen HIV-infizierter Kinder (Progressors „Prog“, non-progressors „PNP“ und therapierte „ART“). (B) Spearman Rank Korrelation der Antikörpertiter mit Helferzellen und (C) HIV-Viruslast (Muenchhoff 2021).

Ergebnisse zur immunologischen Grundlagenforschung im Rahmen der HIV-Heilungsforschung

Abbildung 7 (Roider, Ngoepe et al. 2019) gibt einen Überblick über die durchflusszytometrisch gemessene Anzahl der regulatorischen T-Zellen in 4 pädiatrischen Gruppen: 1. HIV-infizierte Kinder, welche trotz Abwesenheit einer antiretroviralen Therapie ein stabiles Helferzellniveau halten („PSPN, slow progressors“), 2. HIV-infizierte Kinder, die im Studienverlauf eine immunologische Verschlechterung erfahren („PFP, future progressors“), 3. HIV-infizierte Kinder, welche primär schlecht immunologisch aufgestellt sind („PP, progressors“) und 4. HIV-negative Kinder. Hier kann man sehen, dass der Phänotyp der Kinder mit stabilem

immunologischen Niveau („PSPN“) mit einer Vermehrung des suppressiven regulatorischen T-Zelltyps vergesellschaftet ist.

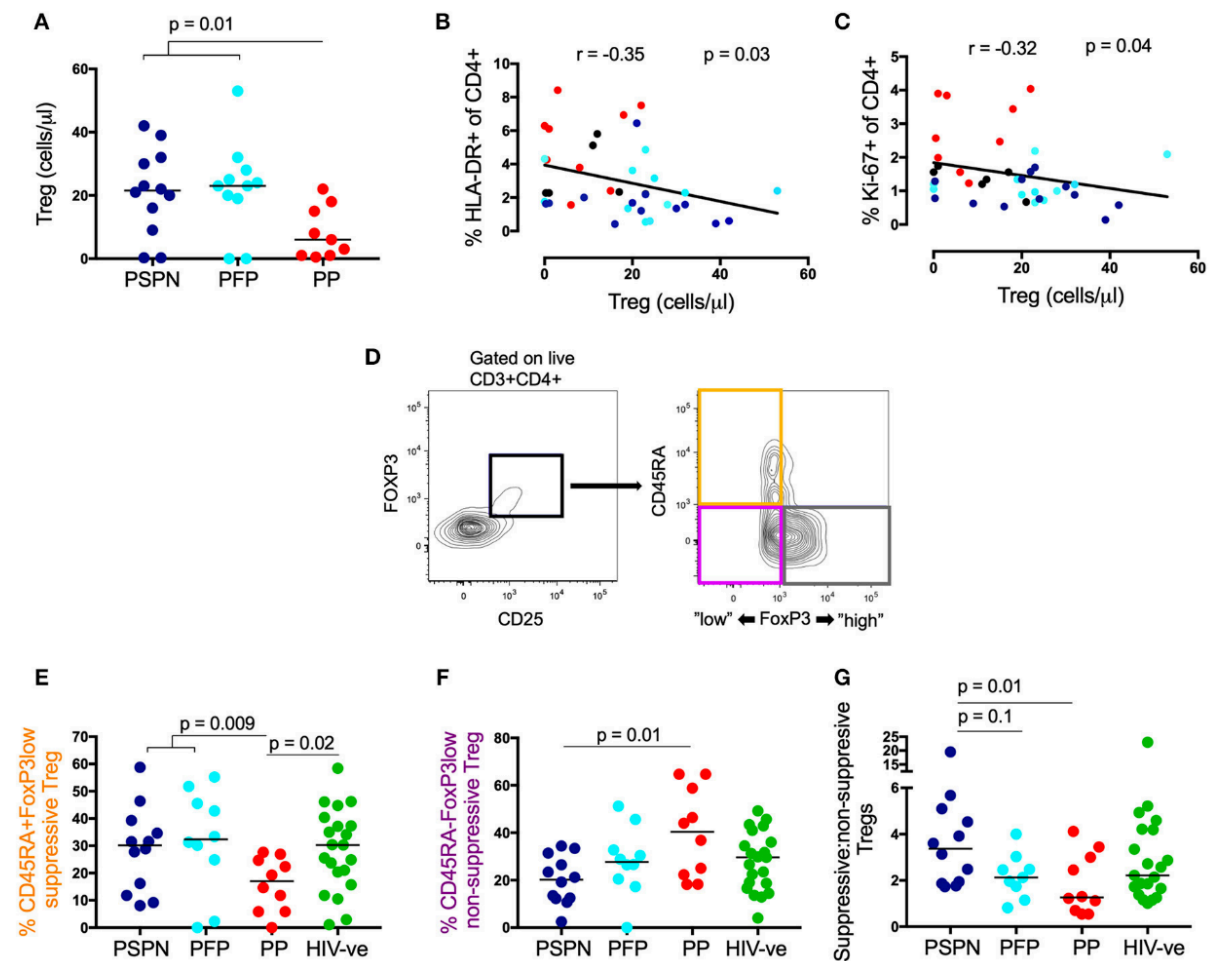


Abbildung 7: Vermehrte regulatorische T-Zellen in HIV-infizierten Kindern mit stabilem Helferzellniveau. (A) HIV-infizierte Kinder mit Helferzellen $>450/\text{mm}^3$ (PSPN und PFP) haben eine signifikant erhöhte Anzahl an regulatorischen T-Zellen wenn verglichen mit HIV-infizierten Kinder mit Helferzellen $<350/\text{mm}^3$ (PP). (B-C) Dies spiegelt sich auch in einer negativen Korrelation (Spearman Rank) mit der Immunaktivierung auf CD4 Zellen wieder. (D) Durchflusszytometrische Gatingstrategie für regulatorische T-Zellen. (E-G) Der Phänotyp der PSPN ist mit einem erhöhten Anteil an suppressiven regulatorischen T-Zellen vergesellschaftet (Roeder, Ngoepe et al. 2019).

In Abbildung 8 (Singh, Kazer et al. 2020) sieht man die Reduktion aller gemessenen angeborenen lymphoiden Zellpopulationen (ILCs) im sekundären Lymphgewebe von HIV-infizierten Kindern.

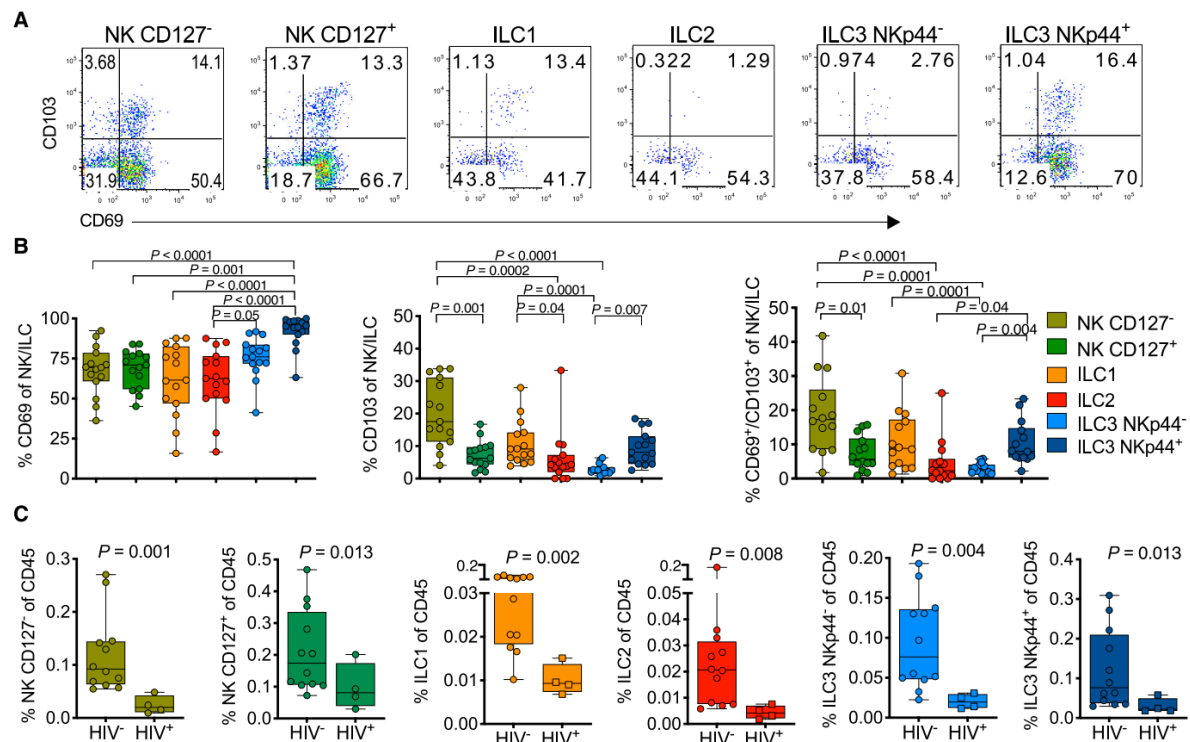


Abbildung 8: Depletion angeborener lymphoider Zellpopulationen im sekundären Lymphgewebe HIV-infizierter Kinder. (A) Durchflusszytometrische Gatingstrategie der lymphoiden Zellpopulationen. **(B)** Frequenz der lymphoiden Zellpopulationen insgesamt und in HIV-infizierten vs. nicht-infizierten Kindern **(C)**.

Abkürzungen

ADCC	Antibody-dependent cellular cytotoxicity
ADCP	Antibody-dependent cellular phagocytosis
ART	Antiretrovirale Therapie
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
HIV	Humanes Immundefizienz Virus
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
ILC	Innate lymphoid cells
INF	Interferon
MHC	Major Histocompatibility Complex
NK	Natural killer cells
NS	Not stimulated
PFP	Paediatric future progressors (Definition sh. Text)
PSP	Paediatric slow progressors (Definition sh. Text)
PP	Paediatric progressors (Definition sh. Text)
SEB	Staphylococcal Enterotoxin B
T _{FH}	T-follikuläre Helferzellen

Literaturverzeichnis

Ackerman, M. E., A. Mikhailova, E. P. Brown, K. G. Dowell, B. D. Walker, C. Bailey-Kellogg, T. J. Suscovich and G. Alter (2016). "Polyfunctional HIV-Specific Antibody Responses Are Associated with Spontaneous HIV Control." PLoS Pathog **12**(1): e1005315.

Allers, K., G. Hutter, J. Hofmann, C. Loddenkemper, K. Rieger, E. Thiel and T. Schneider (2011). "Evidence for the cure of HIV infection by CCR5Delta32/Delta32 stem cell transplantation." Blood **117**(10): 2791-2799.

Ananworanich, J., T. Apornpong, P. Kosalaraksa, T. Jaimulwong, R. Hansudewechakul, C. Pancharoen, T. Bunupuradah, M. Chandara, T. Puthanakit, C. Ngampiyasakul, J. Wongsawat, S. Kanjanavanit, W. Luesomboon, P. Klanginsirikul, N. Ngo-Giang-Huong, S. J. Kerr, S. Ubolyam, T. Mengthaisong, R. S. Gelman, K. Pattanapanyasat, V. Saphonn, K. Ruxrungtham, W. T. Shearer and P. S. Group (2010). "Characteristics of lymphocyte subsets in HIV-infected, long-term nonprogressor, and healthy Asian children through 12 years of age." J Allergy Clin Immunol **126**(6): 1294-1301 e1210.

Baum, L. L., K. J. Cassutt, K. Knigge, R. Khattri, J. Margolick, C. Rinaldo, C. A. Kleeberger, P. Nishanian, D. R. Henrard and J. Phair (1996). "HIV-1 gp120-specific antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity correlates with rate of disease progression." J Immunol **157**(5): 2168-2173.

Binley, J. M., E. A. Lybarger, E. T. Crooks, M. S. Seaman, E. Gray, K. L. Davis, J. M. Decker, D. Wycuff, L. Harris, N. Hawkins, B. Wood, C. Nathe, D. Richman, G. D. Tomaras, F. Bibollet-Ruche, J. E. Robinson, L. Morris, G. M. Shaw, D. C. Montefiori and J. R. Mascola (2008). "Profiling the specificity of neutralizing antibodies in a large panel of plasmas from patients chronically infected with human immunodeficiency virus type 1 subtypes B and C." J Virol **82**(23): 11651-11668.

Blanche, S., M. L. Newell, M. J. Mayaux, D. T. Dunn, J. P. Teglas, C. Rouzioux and C. S. Peckham (1997). "Morbidity and mortality in European children vertically infected by HIV-1. The French Pediatric HIV Infection Study Group and European Collaborative Study." J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol **14**(5): 442-450.

Borrow, P., H. Lewicki, B. H. Hahn, G. M. Shaw and M. B. Oldstone (1994). "Virus-specific CD8+ cytotoxic T-lymphocyte activity associated with control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 infection." J Virol **68**(9): 6103-6110.

Borrow, P., H. Lewicki, X. Wei, M. S. Horwitz, N. Pfeffer, H. Meyers, J. A. Nelson, J. E. Gairin, B. H. Hahn, M. B. Oldstone and G. M. Shaw (1997). "Antiviral pressure exerted by HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs) during primary infection demonstrated by rapid selection of CTL escape virus." Nat Med **3**(2): 205-211.

Brenchley, J. M. and M. Paiardini (2011). "Immunodeficiency lentiviral infections in natural and non-natural hosts." Blood **118**(4): 847-854.

Chahroudi, A., S. E. Bosinger, T. H. Vanderford, M. Paiardini and G. Silvestri (2012). "Natural SIV hosts: showing AIDS the door." Science **335**(6073): 1188-1193.

Chung, A. W., M. Ghebremichael, H. Robinson, E. Brown, I. Choi, S. Lane, A. S. Dugast, M. K. Schoen, M. Rolland, T. J. Suscovich, A. E. Mahan, L. Liao, H. Streeck, C. Andrews, S. Rerks-Ngarm, S. Nitayaphan, M. S. de Souza, J. Kaewkungwal, P. Pitisuttithum, D. Francis, N. L. Michael, J. H. Kim, C. Bailey-Kellogg, M. E. Ackerman and G. Alter (2014). "Polyfunctional Fc-effector profiles mediated by IgG subclass selection distinguish RV144 and VAX003 vaccines." Sci Transl Med **6**(228): 228ra238.

Davenport, M. P., L. Loh, J. Petravic and S. J. Kent (2008). "Rates of HIV immune escape and reversion: implications for vaccination." Trends Microbiol **16**(12): 561-566.

Derache, A., O. Traore, V. Koita, A. Sylla, R. Tubiana, A. Simon, A. Canestri, G. Carcelain, C. Katlama, V. Calvez, M. Cisse and A. G. Marcelin (2007). "Genetic diversity and drug resistance mutations in HIV type 1 from untreated patients in Bamako, Mali." Antivir Ther **12**(1): 123-129.

Fouda, G. G., C. K. Cunningham, E. J. McFarland, W. Borkowsky, P. Muresan, J. Pollara, L. Y. Song, B. E. Liebl, K. Whitaker, X. Shen, N. A. Vandergrift, R. G. Overman, N. L. Yates, M. A. Moody, C. Fry, J. H. Kim, N. L. Michael, M. Robb, P. Pitisuttithum, J. Kaewkungwal, S. Nitayaphan, S. Rerks-Ngarm, H. X. Liao, B. F. Haynes, D. C. Montefiori, G. Ferrari, G. D. Tomaras and S. R. Permar (2015). "Infant HIV type 1 gp120 vaccination elicits robust and durable anti-V1V2 immunoglobulin G responses and only rare envelope-specific immunoglobulin A responses." J Infect Dis **211**(4): 508-517.

Goo, L., V. Chohan, R. Nduati and J. Overbaugh (2014). "Early development of broadly neutralizing antibodies in HIV-1-infected infants." Nat Med **20**(6): 655-658.

Goulder, P. J., S. R. Lewin and E. M. Leitman (2016). "Paediatric HIV infection: the potential for cure." Nat Rev Immunol **16**(4): 259-271.

Hainaut, M., V. Verscheure, M. Ducarme, L. Schandene, J. Levy and F. Mascart (2011). "Cellular immune responses in human immunodeficiency virus (HIV)-1-infected children: is immune restoration by highly active anti-retroviral therapy comparable to non-progression?" Clin Exp Immunol **165**(1): 77-84.

Hammer, S. M., M. E. Sobieszczyk, H. Janes, S. T. Karuna, M. J. Mulligan, D. Grove, B. A. Koblin, S. P. Buchbinder, M. C. Keefer, G. D. Tomaras, N. Frahm, J. Hural, C. Anude, B. S. Graham, M. E. Enama, E. Adams, E. DeJesus, R. M. Novak, I. Frank, C. Bentley, S. Ramirez, R. Fu, R. A. Koup, J. R. Mascola, G. J. Nabel, D. C. Montefiori, J. Kublin, M. J. McElrath, L. Corey, P. B. Gilbert and H. S. Team (2013). "Efficacy trial of a DNA/rAd5 HIV-1 preventive vaccine." N Engl J Med **369**(22): 2083-2092.

Klein, J. and A. Sato (2000). "The HLA system. First of two parts." N Engl J Med **343**(10): 702-709.

Klein, J. and A. Sato (2000). "The HLA system. Second of two parts." N Engl J Med **343**(11): 782-786.

Koup, R. A., J. T. Safrit, Y. Cao, C. A. Andrews, G. McLeod, W. Borkowsky, C. Farthing and D. D. Ho (1994). "Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome." J Virol **68**(7): 4650-4655.

Landais, E., X. Huang, C. Havenar-Daughton, B. Murrell, M. A. Price, L. Wickramasinghe, A. Ramos, C. B. Bian, M. Simek, S. Allen, E. Karita, W. Kilembe, S. Lakhi, M. Inambao, A. Kamali, E. J. Sanders, O. Anzala, V. Edward, L. G. Bekker, J. Tang, J. Gilmour, S. L. Kosakovsky-Pond, P. Phung, T. Wrin, S. Crotty, A. Godzik and P. Poignard (2016). "Broadly Neutralizing Antibody Responses in a Large Longitudinal Sub-Saharan HIV Primary Infection Cohort." PLoS Pathog **12**(1): e1005369.

Liu, J., K. L. O'Brien, D. M. Lynch, N. L. Simmons, A. La Porte, A. M. Riggs, P. Abbink, R. T. Coffey, L. E. Grandpre, M. S. Seaman, G. Landucci, D. N. Forthal, D. C. Montefiori, A. Carville, K. G. Mansfield, M. J. Havenga, M. G. Pau, J. Goudsmit and D. H. Barouch (2009). "Immune control of an SIV challenge by a T-cell-based vaccine in rhesus monkeys." Nature **457**(7225): 87-91.

Marcelin, A. G., B. Jarrousse, A. Derache, M. Ba, M. L. Dakouo, A. Doumbia, I. Haidara, A. Maiga, G. Carcelain, G. Peytavin, C. Katlama and V. Calvez (2007). "HIV drug resistance after the use of generic fixed-dose combination stavudine/lamivudine/nevirapine as standard first-line regimen." AIDS **21**(17): 2341-2343.

Marconi, V. C., H. Sunpath, Z. Lu, M. Gordon, K. Koranteng-Apeagyei, J. Hampton, S. Carpenter, J. Giddy, D. Ross, H. Holst, E. Losina, B. D. Walker, D. R. Kuritzkes and T. South Africa Resistance Cohort Study (2008). "Prevalence of HIV-1 drug resistance after failure of a first highly active antiretroviral therapy regimen in KwaZulu Natal, South Africa." Clin Infect Dis **46**(10): 1589-1597.

Martin, W., H. Sbati and A. S. De Groot (2003). "Bioinformatics tools for identifying class I-restricted epitopes." Methods **29**(3): 289-298.

Mascola, J. R. and B. F. Haynes (2013). "HIV-1 neutralizing antibodies: understanding nature's pathways." Immunol Rev **254**(1): 225-244.

Mascola, J. R., G. Stiegler, T. C. VanCott, H. Katinger, C. B. Carpenter, C. E. Hanson, H. Beary, D. Hayes, S. S. Frankel, D. L. Birx and M. G. Lewis (2000). "Protection of macaques against vaginal transmission of a pathogenic HIV-1/SIV chimeric virus by passive infusion of neutralizing antibodies." Nat Med **6**(2): 207-210.

Maserati, R., A. De Silvestri, A. Uglietti, G. Colao, A. Di Biagio, B. Bruzzone, M. Di Pietro, M. C. Re, C. Tinelli, M. Zazzi and A. C. Group (2010). "Emerging mutations at virological failure of HAART combinations containing tenofovir and lamivudine or emtricitabine." AIDS **24**(7): 1013-1018.

McGuire, E. P., Y. Fong, C. Toote, C. K. Cunningham, E. J. McFarland, W. Borkowsky, S. Barnett, H. L. Itell, A. Kumar, G. Gray, M. J. McElrath, G. D. Tomaras, S. R. Permar and G. G. Fouda (2018). "HIV-Exposed Infants Vaccinated with an MF59/Recombinant gp120 Vaccine Have Higher-Magnitude Anti-V1V2 IgG Responses than Adults Immunized with the Same Vaccine." *J Virol* **92**(1).

Moldt, B., E. G. Rakasz, N. Schultz, P. Y. Chan-Hui, K. Swiderek, K. L. Weisgrau, S. M. Piaskowski, Z. Bergman, D. I. Watkins, P. Poignard and D. R. Burton (2012). "Highly potent HIV-specific antibody neutralization in vitro translates into effective protection against mucosal SHIV challenge in vivo." *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**(46): 18921-18925.

Montefiori, D. C., C. Karnasuta, Y. Huang, H. Ahmed, P. Gilbert, M. S. de Souza, R. McLinden, S. Tovanabutra, A. Laurence-Chenine, E. Sanders-Buell, M. A. Moody, M. Bonsignori, C. Ochsenbauer, J. Kappes, H. Tang, K. Greene, H. Gao, C. C. LaBranche, C. Andrews, V. R. Polonis, S. Rerks-Ngarm, P. Pitisuttithum, S. Nitayaphan, J. Kaewkungwal, S. G. Self, P. W. Berman, D. Francis, F. Sinangil, C. Lee, J. Tartaglia, M. L. Robb, B. F. Haynes, N. L. Michael and J. H. Kim (2012). "Magnitude and breadth of the neutralizing antibody response in the RV144 and Vax003 HIV-1 vaccine efficacy trials." *J Infect Dis* **206**(3): 431-441.

Muenchhoff, M., E. Adland, O. Karimanzira, C. Crowther, M. Pace, A. Csala, E. Leitman, A. Moonsamy, C. McGregor, J. Hurst, A. Groll, M. Mori, S. Sinmyee, C. Thobakgale, G. Tudor-Williams, A. J. Prendergast, H. Kloverpris, J. Roider, A. Leslie, D. Shingadia, T. Brits, S. Daniels, J. Frater, C. B. Willberg, B. D. Walker, T. Ndung'u, P. Jooste, P. L. Moore, L. Morris and P. Goulder (2016). "Nonprogressing HIV-infected children share fundamental immunological features of nonpathogenic SIV infection." *Sci Transl Med* **8**(358): 358ra125.

Muenchhoff, M. C., A.; Roider, J.; Dugast, A.S.; Richardson, S.; Kløverpris, H.; Leslie, A.; Ndung'u, T.; Moore, P.; Alter, G.; Goulder, P. JR. (2021). "Distinct immunoglobulin Fc-glycosylation and -function are associated with disease non-progression and broadly neutralising antibody responses in pediatric HIV-infection." *mSphere*.

Newell, M. L., H. Coovadia, M. Cortina-Borja, N. Rollins, P. Gaillard, F. Dabis, A. S. W. G. o. H. I. V. I. i. W. Ghent International and Children (2004). "Mortality of infected and uninfected infants born to HIV-infected mothers in Africa: a pooled analysis." *Lancet* **364**(9441): 1236-1243.

Parren, P. W., P. A. Marx, A. J. Hessel, A. Luckay, J. Harouse, C. Cheng-Mayer, J. P. Moore and D. R. Burton (2001). "Antibody protects macaques against vaginal challenge with a pathogenic R5 simian/human immunodeficiency virus at serum levels giving complete neutralization in vitro." *J Virol* **75**(17): 8340-8347.

Paul, M. E., C. Mao, M. Charurat, L. Serchuck, M. Foca, K. Hayani, E. L. Handelsman, C. Diaz, K. McIntosh, W. T. Shearer, Women and S. Infants Transmission (2005). "Predictors of immunologic long-term nonprogression in HIV-infected children: implications for initiating therapy." *J Allergy Clin Immunol* **115**(4): 848-855.

Pegu, A., Z. Y. Yang, J. C. Boyington, L. Wu, S. Y. Ko, S. D. Schmidt, K. McKee, W. P. Kong, W. Shi, X. Chen, J. P. Todd, N. L. Letvin, J. Huang, M. C. Nason, J. A. Hoxie, P. D. Kwong, M. Connors, S. S. Rao, J. R. Mascola and G. J. Nabel (2014). "Neutralizing antibodies to HIV-1 envelope protect more effectively in vivo than those to the CD4 receptor." Sci Transl Med **6**(243): 243ra288.

Price, D. A., P. J. Goulder, P. Klenerman, A. K. Sewell, P. J. Easterbrook, M. Troop, C. R. Bangham and R. E. Phillips (1997). "Positive selection of HIV-1 cytotoxic T lymphocyte escape variants during primary infection." Proc Natl Acad Sci U S A **94**(5): 1890-1895.

Rerks-Ngarm, S., P. Pitisuttithum, S. Nitayaphan, J. Kaewkungwal, J. Chiu, R. Paris, N. Premisri, C. Namwat, M. de Souza, E. Adams, M. Benenson, S. Gurunathan, J. Tartaglia, J. G. McNeil, D. P. Francis, D. Stablein, D. L. Birx, S. Chunsuttiwat, C. Khamboonruang, P. Thongcharoen, M. L. Robb, N. L. Michael, P. Kunasol, J. H. Kim and M.-T. Investigators (2009). "Vaccination with ALVAC and AIDSVAX to prevent HIV-1 infection in Thailand." N Engl J Med **361**(23): 2209-2220.

Roider, J., A. L. Kalteis, T. Vollbrecht, L. Gloning, R. Stirner, N. Henrich, J. R. Bogner and R. Draenert (2013). "Adaptation of CD8 T cell responses to changing HIV-1 sequences in a cohort of HIV-1 infected individuals not selected for a certain HLA allele." PLoS One **8**(12): e80045.

Roider, J., T. Maehara, A. Ngoepe, D. Ramsuran, M. Muenchhoff, E. Adland, T. Aicher, S. W. Kazer, P. Jooste, F. Karim, W. Kuhn, A. K. Shalek, T. Ndung'u, L. Morris, P. L. Moore, S. Pillai, H. Kloverpris, P. Goulder and A. Leslie (2018). "High-Frequency, Functional HIV-Specific T-Follicular Helper and Regulatory Cells Are Present Within Germinal Centers in Children but Not Adults." Front Immunol **9**: 1975.

Roider, J., T. Meissner, F. Kraut, T. Vollbrecht, R. Stirner, J. R. Bogner and R. Draenert (2014). "Comparison of experimental fine-mapping to in silico prediction results of HIV-1 epitopes reveals ongoing need for mapping experiments." Immunology **143**(2): 193-201.

Roider, J., A. Ngoepe, M. Muenchhoff, E. Adland, A. Groll, T. Ndung'u, H. Kloverpris, P. Goulder and A. Leslie (2019). "Increased Regulatory T-Cell Activity and Enhanced T-Cell Homeostatic Signaling in Slow Progressing HIV-infected Children." Front Immunol **10**: 213.

Roider, J., J. Z. Porterfield, P. Ogongo, M. Muenchhoff, E. Adland, A. Groll, L. Morris, P. L. Moore, T. Ndung'u, H. Kloverpris, P. J. R. Goulder and A. Leslie (2019). "Plasma IL-5 but Not CXCL13 Correlates With Neutralization Breadth in HIV-Infected Children." Front Immunol **10**: 1497.

Rolland, M., P. T. Edlefsen, B. B. Larsen, S. Tovanabutra, E. Sanders-Buell, T. Hertz, A. C. deCamp, C. Carrico, S. Menis, C. A. Magaret, H. Ahmed, M. Juraska, L. Chen, P. Konopa, S. Nariya, J. N. Stoddard, K. Wong, H. Zhao, W. Deng, B. S. Maust, M. Bose, S. Howell, A. Bates, M. Lazzaro, A. O'Sullivan, E. Lei, A. Bradfield, G. Ibitamuno, V. Assawadarachai, R. J. O'Connell, M. S. deSouza, S. Nitayaphan, S. Rerks-Ngarm, M. L. Robb, J. S. McLellan, I. Georgiev, P. D. Kwong, J. M. Carlson, N. L. Michael, W. R. Schief, P. B. Gilbert, J. I. Mullins

and J. H. Kim (2012). "Increased HIV-1 vaccine efficacy against viruses with genetic signatures in Env V2." Nature **490**(7420): 417-420.

Silvestri, G., D. L. Sodora, R. A. Koup, M. Paiardini, S. P. O'Neil, H. M. McClure, S. I. Staprans and M. B. Feinberg (2003). "Nonpathogenic SIV infection of sooty mangabeys is characterized by limited bystander immunopathology despite chronic high-level viremia." Immunity **18**(3): 441-452.

Singh, A., S. W. Kazer, J. Roider, K. C. Krista, J. Millar, O. E. Asowata, A. Ngoepe, D. Ramsuran, R. Fardoos, A. Ardain, M. Muenchhoff, W. Kuhn, F. Karim, T. Ndung'u, A. K. Shalek, P. Goulder, A. Leslie and H. N. Kloverpris (2020). "Innate Lymphoid Cell Activation and Sustained Depletion in Blood and Tissue of Children Infected with HIV from Birth Despite Antiretroviral Therapy." Cell Rep **32**(11): 108153.

Ssewanyana, I., M. Elrefaei, G. Dorsey, T. Ruel, N. G. Jones, A. Gasasira, M. Kamya, J. Nakiwala, J. Achan, E. Charlebois, D. Havlir and H. Cao (2007). "Profile of T cell immune responses in HIV-infected children from Uganda." J Infect Dis **196**(11): 1667-1670.

Streeck, H., M. P. D'Souza, D. R. Littman and S. Crotty (2013). "Harnessing CD4(+) T cell responses in HIV vaccine development." Nat Med **19**(2): 143-149.

UNAIDS (2018). "UNAIDS data."

van Gils, M. J., Z. Euler, B. Schweighardt, T. Wrin and H. Schuitemaker (2009). "Prevalence of cross-reactive HIV-1-neutralizing activity in HIV-1-infected patients with rapid or slow disease progression." AIDS **23**(18): 2405-2414.

Vivier, E., D. Artis, M. Colonna, A. Diefenbach, J. P. Di Santo, G. Eberl, S. Koyasu, R. M. Locksley, A. N. J. McKenzie, R. E. Mebius, F. Powrie and H. Spits (2018). "Innate Lymphoid Cells: 10 Years On." Cell **174**(5): 1054-1066.

Vollbrecht, T., J. Eberle, J. Roider, S. Buhler, R. Stirner, N. Henrich, U. Seybold, J. R. Bogner and R. Draenert (2012). "Control of M184V HIV-1 mutants by CD8 T-cell responses." Med Microbiol Immunol **201**(2): 201-211.

West, A. P., Jr., L. Scharf, J. F. Scheid, F. Klein, P. J. Bjorkman and M. C. Nussenzweig (2014). "Structural insights on the role of antibodies in HIV-1 vaccine and therapy." Cell **156**(4): 633-648.

Wilson, N. A., J. Reed, G. S. Napoe, S. Piaskowski, A. Szymanski, J. Furlott, E. J. Gonzalez, L. J. Yant, N. J. Maness, G. E. May, T. Soma, M. R. Reynolds, E. Rakasz, R. Rudersdorf, A. B. McDermott, D. H. O'Connor, T. C. Friedrich, D. B. Allison, A. Patki, L. J. Picker, D. R. Burton, J. Lin, L. Huang, D. Patel, G. Heindecker, J. Fan, M. Citron, M. Horton, F. Wang, X. Liang, J. W. Shiver, D. R. Casimiro and D. I. Watkins (2006). "Vaccine-induced cellular immune responses reduce plasma viral concentrations after repeated low-dose challenge with pathogenic simian immunodeficiency virus SIVmac239." J Virol **80**(12): 5875-5885.